

Adatok néhány talajgomba szerepéről a lignin mikrobiológiai lebontásában

GULYÁS FERENC

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

A legtöbb szerző úgy véli, hogy lignin lebontásában gombáknak van a legfontosabb szerepe. WAKSMAN [33], WAKSMAN és TENNEY [37], WAKSMAN és HUTCHINGS [35], WAKSMAN és CORDON [34] rámutatnak, hogy a növényi eredetű lignint, valamint a különböző kémiai előállított ligninpreparátumokat a gombák képesek elbontani, azonban sokkal lassabban mint más növényi frakciókat (pektin, cellulóz, hemicellulóz stb.). Az idézett szerzők a makro és mikrogombáknak egyaránt aktív szerepet tulajdonítanak a lignin lebontásában. DAY és munkatársai [3], GOTTLIEB és PELCZAR [12] LEDINGHAM és ADAMS [21], RYPAČEK [27] adatai szerint a magasabbrendű gombák között nagy számban találhatók ligninbontó szervezetek, amelyeknek fontos szerepük van a fásodott szövetű növényi maradványok lebontásában. A ligninbontó talajgombákról FISCHER [5], HENDERSON [15, 16], HENDERSON és FARMER [13], közöltek újabb adatokat. HENDERSON és FARMER [13], dolgozatukban mintegy harminc — a *Fungi Imperfecti* csoportjába tartozó — talajgombáról számolnak be, amelyek képesek a ligninen, mint egyedüli szénforráson növekedni és lebontják a ligninből származtatható aromás vegyületeket (p-hydroxybenzaldehyd, ferulasav, vanillin, syringaldehyd). Baktériumoknak a ligninbontásban betöltött szerepére vonatkozólag kevés számú dolgozat utal, (PHILLIPS és munkatársai [22], WAKSMAN és HUTCHINGS [35]), bár RAYNAUD és munkatársai [26] szerint egyes baktérium fajok az *Achromobacter* és a *Pseudomonas* nemzetségből kitűnően bontják a ligninanyagot. SUNDMAN [28, 29] néhány *Agrobacterium* fajról közöl adatokat, amelyek oxidálják az α -konidendrint és több ligninből származtatható aromás anyagon kívül a ligninpreparátumot is.

A lignin biológiai lebomlásának tanulmányozását nagymértékben segítik a lignin-kémia terén elért újabb eredmények, amelyek FREUDENBERG [10], FREUDENBERG és munkatársai [8, 9], valamint HIBBERT [17] vizsgálatai alapján az alábbiakban összegezhetők: A lignin molekula szerkezeti elemei az aromás gyűrűből és három szénatomos oldalláncból álló fenilpropán egységek. A lignint felépítő fenilpropánok meghatározott funkcionális csoportokat — metoxi, fenolos és alkoholos hidroxil, valamint karbonil-gyököket — tartalmaznak. A ligninből lúgos nitrobenzollal történő oxidáció útján elemi aromás vegyületek nyerhetők. A fenyők ligninje vanillint, a lombos fáké vanillint és syringaldehyd, a lágyszárú növényeké pedig az előbbieken kívül p-hydroxybenzaldehydet szolgáltat. A lignin molekula a fenilpropán-egységek észterifikálódása révén épül fel, ezután következik az oldallánc ciklizálódása a szomszédos aromás gyűrűvel. Ezen folyamatok eredményeképpen olyan láncalakú molekulák jönnek létre, amelyek 7—10 fenilpropán egységből állanak.

A fenilpropán egységek között FREUDENBERG [10] C-O-C, C-C kapcsolatokat feltételez. BONDI és MEYER [2] szerint a lágyszárú növények lignin molekulája, csak három aromás gyűrűt tartalmaz és eltérően a fafélékétől, ligninjében nitrogén is található, amelyet azonban nem szerkezeti, hanem csak nehezen elválasztható kísérő anyagnak tartanak.

A lignin lebontásának mechanizmusa részleteiben még nem ismert. FLAIG és munkatársai [6], FISCHER [5], GOTTLIEB és PELCZAR [12] szerint, a növényi szervesanyagok humifikációjának első szakaszában megszakadnak a lignin és a többi növényi összetevő közötti kapcsolatok. A lignin átalakulásának következő szakaszát a motoxi és a metilcsoportok elvesztésében látják, s ezzel párhuzamosan megjelennek a karboxil csoportok. A lignin átalakulási termékei kölcsönhatásba lépnek a mikroorganizmusok anyagszere termékeivel; így a különböző aminosavakkal és fehérjékkel, amely a lignin nitrogéntartalmának fokozatos emelkedését eredményezi, míg a széntartalom csökken.

HENDERSON [15, 16], HENDERSON és FARMER [13] a ligninbontás két fő fázisának az aromás összetevők felszabadítását és a benzolgyűrű teljes szétbontását tartják. Az aromás összetevők felszabadítását HENDERSON [14] kísérletileg is igazolta. Fűrészporból a *Trametes pini* és a *Polystictus versicolor* nevű gomba tenyészeiben aromás ligninszármazékok keletkeztek. Az aromás vegyületek elbontása — fokozatos oxidáció útján — a benzolgyűrű széthasadásához vezet és egyszerű alifás vegyületek keletkeznek. HENDERSON adatai szerint egyes mikrogombák a benzolgyűrű teljes szétbontására, míg mások csak a fenolanyagok részleges oxidációjára képesek.

Kísérleti rész

Munkánk során azt tanulmányoztuk, hogy a kísérletbe vont 20 mikroszkopikus talajgomba milyen szerepet visz a natív növényi lignin, valamint a kémiai úton kinyert ligninpreparátum elbontásában. Vizsgálatokat végeztünk arra vonatkozólag is, hogy a különböző nitrogénforrások, valamint a lignin mellett kiegészítő szénforrásként alkalmazott glukóz illetve cellulóz, milyen mértékben befolyásolja a lignin lebontását. Munkánk harmadik részében a gombák növekedését tanulmányoztuk aromás lignin származékokon.

A tanulmányozott gombatörzsek túlnyomó részét a Nagyhörsögi Állami Gazdaság mészlepedékes csernozjom talajából izoláltuk. A talaj legfontosabb kémiai adatai egy másik dolgozatban (SZEGI és GULYÁS [30]) kerültek ismertetésre. A gombák izolálását dúsítási eljárás illetve HENDERSON és FARMER [13] által ismertetett szelektív módszer segítségével végeztük. A fentiekén kívül kísérletbe vontunk néhány olyan gombatörzset is, amely törzsgyűjteményünkéből származik, s korábban cellulóz szénforrást tartalmazó tápközegen lett izolálva. A dúsítási technika esetében az alábbi módszert követtük: 50 ml steril csapvizet tartalmazó lombikokba 2.5—2.5 g talajt mértünk be. A 15 percig tartó rázatás útján nyert talajszuszpenzióból 0,5 ml-t vittünk át egy steril, folyékony, ásványi összetételű tápközegbe, amely szénforrásként 2% szalmalisztet tartalmazott. A talajszuszpenzióval beoltott enyészeteket 28° C-os termosztátban 6 hónapig inkubáltuk, majd a szalmával dúsított tenyészetekből 1—1 ml-t olyan steril szilikagél lemezekre vittünk, amelyek felületére sterilizálás előtt vékony rétegben ligninport helyeztünk és steril, ásványi összetételű tápoldattal itattuk át. Három hétig tartó

inkubáció után a lemezeken megjelent gombamicéliumokat újabb, a fentiekben ismertetett lignint tartalmazó szilikagél lemezekre oltottuk át. Az újabb háromhetes inkubáció után a ligninen növekedő gombamicéliumokat maláta agarra oltottuk, majd a gombatelepeket megtisztítottuk. A cersavas izolálási módszer esetében HENDERSON és FARMER [13] által ismertetett módszert követtük. A hígítási lemezöntési eljárás során módosított, WAKSMAN [32] féle tápközeget használtunk, amelyben a pepton $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -al volt helyettesítve és glukóz helyett 0,1% tannint mértünk be. A Petri-csészébe kiöntött agar lemezek 1 ml 1/1000, 1/10 000, 1/100 000 hígítású talajszuszpenziót tartalmaztak. Tíz napig tartó inkubáció után a lemezeken barna udvart képező gombatelepeket leoltottuk, majd megtisztítottuk. A gombatörzsek meghatározását RAPER és THOM [25, 31] BILAJ [1] és GILMAN [11] határozó könyvei alapján végeztük.

Munkánk első részében a búzaszalmaliszt elbontását tanulmányoztuk, modellkísérletben.

A szalmalisztet hideg, majd forró desztillált vízzel történő mosás útján megtisztítottuk a szennyeződéstől. A 105° C-on súlyállandóságig szárított szalmalisztből 250 ml-es Erlenmeyer lombikokban szénforrásként 2—2 g-ot mértünk be, amelyhez 50 ml pH 7-es M/15 foszfátpuffert és 50 ml szintetikus táptalajt adagoltunk. Ennek összetétele: $\text{MgSO}_4 = 1 \text{ g}$, $\text{KCl} = 1 \text{ g}$, $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 3 \text{ g}$, nyomelemkeverék 2 ml, desztillált víz 1000 ml. Sterilizálás után a beoltást a gombatörzsek spóraszuszpenziójának azonos mennyiségeivel, illetve talajszuszpenzió és bomló növényi maradvány bevitelével végeztük. Oltás után a lombikok vattadugóit steril gumidugókkal cseréltük ki. A gumidugók egy hosszabb és egy rövidebb üvegsövet tartalmaztak. A dugókból kiálló üvegsöveket gumicsődarabok segítségével respirációs rendszerbe csatlakoztattuk. A tenyészetek sterilizálását az üvegsövek dugófeletti kiszélesedő részébe helyezett vattaszűrő biztosította. A tenyészeteket az inkubálás alatt állandóan levegőztettük.

Az inkubáció 26° C-os termosztátban 6 hónapig tartott. Ennek befejeztével a tenyészfolyadéktól szűréssel elválasztottuk a szalmalisztet. A maradék szervesanyagot a szűrőtégelyekben forró vízzel, 12%-os sósavval mostuk, majd abszolút száraz állapotban visszamértük. A lignin tartalmat KLASON [18] módszerével határoztuk meg. A vizsgálat eredményeit az 1. táblázatban közöljük.

Munkánk további részében a kizárólagos szénforrásként alkalmazott cellulóz, hemicellulóz és lignin mikrobiológiai lebontását tanulmányoztuk.

Cellulózforrásként szűrőpapír-őrleményt használtunk. A ligninpreparátumot FREUDENBERG [7], a hemicellulózt pedig POCHON [24] módszerével állítottuk elő.

A kísérletek beállítását az előzőekben leírt modellkísérlet metodikája szerint végeztük: 250 ml-es Erlenmeyer lombikokban külön-külön 2 g cellulózt, 2 g hemicellulózt, a lignin esetében pedig 0,2 g lignint mértünk be. A szintetikus tápközeg összetétele azonos volt az előző kísérletben felhasználttal. Lombikoként 50 ml táptalajt és 50 ml M/15 pH 7-es foszfát-puffert adagoltunk. Sterilizálás után a beoltás: a gombák spóraszuszpenziója, talajszuszpenzió, illetve bomló növényi maradvány bevitelével történt. Inkubációs idő — levegő átfúvatása mellett — a cellulóz és hemicellulóz esetében 12 hét, a lignin esetében pedig 6 hónap volt. Az inkubáció befejeztével az elbontott cellulóz, hemicellulóz és lignin mennyiségét a visszamaradt anyagrészt mérés útján határoztuk meg.

1. táblázat

A szalma elbontása szaprofita gombák által. (Inkubációs idő 6 hónap)

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
A tanulmányozott gombatörzsek megnevezése és jelzése	Elbontott szalma, mg	A ligninen kívüli szalmaanyagok elbontása %	A lignin elbontása %	Lignintartalom a maradék szalmában %
<i>Aspergillus candidus</i> (L—1)	445	28,1	2,6	27,8
<i>Penicillium piscarium</i> (L—2)	732	43,9	12,1	31,9
<i>Penicillium verruculosum</i> (L—5)	666	41,1	5,4	32,7
<i>Penicillium</i> sp. (511) <i>Penicillium funiculosum</i> series	664	40,3	9,3	31,3
<i>Penicillium pallidum</i>	771	48,0	6,9	34,9
<i>Penicillium nalgiovensis</i> (Ksz—11)	728	42,9	14,5	31,0
<i>Penicillium</i> sp. (Ksz—14) <i>Penicillium purpurogenum</i> series	592	37,6	3,0	31,7
<i>Penicillium</i> sp. (L—8)	536	34,7	1,3	31,1
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>herbarum</i> (L—6)	712	40,2	20,2	28,5
<i>Fusarium aquaeductum</i> var. <i>dimerum</i> (tn—22)	701	39,7	17,8	29,2
<i>Fusarium</i> sp. (602)	566	33,8	10,0	28,9
<i>Fusarium solani</i> var. <i>argillaceum</i> (L—12)	556	34,0	7,6	29,5
<i>Fusarium nivale</i> (L—4)	383	24,6	0,9	28,3
<i>Stachybotrys atra</i>	689	39,4	17,6	29,0
<i>Verticillium candelabrum</i> (L—13)	918	55,9	12,4	37,3
<i>Humicola</i> (Hsz—304)	712	43,4	9,5	32,4
Steril micélium (L—9)	619	36,4	9,8	30,0
<i>Hormodendrum</i> sp. (L—11)	653	39,4	10,0	30,4
<i>Nigrospora</i> sp.	634	41,1	—	33,8
<i>Hormodendrum</i> sp. (L—10)	635	37,3	9,4	30,6
Dúsított mikroflóra	634	35,2	20,0	27,0
Talajmikroflóra	656	37,7	16,5	28,6
a) Az eredeti szalmaanyag	2000 mg			
b) Az eredeti szalmaanyagban		1539 mg	461 mg	23,05%

meg. A hemicellulóz-maradék meghatározása során úgy jártunk el, hogy a tenyészlombikokban levő anyagot sósavval megsavanyítottuk, majd a visszamaradt hemicellulózt szűrőssel elválasztottuk a tápoldattól. Hideg desztillált vízzel történt mosás útján eltávolítottuk az ásványi sókat és a sósav maradékát. A visszamaradt anyagot abszolút száraz állapotban mértük, majd Kjeldahl módszerével össznitrogén meghatározást végeztünk és a micéliumok súlyát fehérje formában leszámítottuk. A cellulóz visszahatározása esetében a cellulóz maradékot 12%-os HCl-val, 0,2%-os NaOH-val és forró desztillált vízzel mostuk. A visszamaradt cellulózt abszolút száraz állapotban mértük és a micélium maradékot fehérje formában leszámítottuk. A lignin visszahatározását KLASON módszere alapján végeztük. Az eredményeket a 2. táblázatban ismertetjük.

Vizsgálatokat végeztünk arra vonatkozólag is, hogy a különböző nitrogénforrások, valamint a lignin mellett kiegészítő szénforrásként alkalmazott glukóz és cellulóz milyen mértékben befolyásolja a lignin elbontását.

2. táblázat

A cellulóz, a hemicellulóz, és a lignin elbontása a talajból izolált mikrogombák által.
(Inkubációs idő lignin esetében 6 hónap, cellulóz és hemicellulóznál 12 hét).

(1) Vizsgált gombatörzsek megnevezése és jelzése	(2) Az elbontott anyag mennyisége %-ban		
	cellulóz 100%=2000 mg	lignin 100%=200 mg	hemicellulóz 100%=2000 mg
<i>Aspergillus candidus</i> (L—1)	40,0	5,0	80,7
<i>Penicillium piscarium</i> (L—2)	68,5	12,5	75,5
<i>Penicillium verruculosum</i> (L—5)	85,2	9,0	75,2
<i>Penicillium</i> sp. (511) <i>Penicillium funiculosum</i> series	91,2	9,0	82,4
<i>Penicillium pallidum</i>	62,6	7,5	76,4
<i>Penicillium nalgiovensis</i> (Ksz—11)	57,6	8,5	77,9
<i>Penicillium</i> sp. (Ksz—14) <i>Penicillium purpurogenum</i> (series)	76,0	7,5	80,1
<i>Penicillium</i> sp. (L—8)	67,0	4,0	81,4
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>herbarum</i> (L—6)	83,3	11,0	86,1
<i>Fusarium aquaeductum</i> var. <i>dimerum</i> (tn—22)	85,0	11,5	81,2
<i>Fusarium</i> sp. (602)	71,2	11,5	83,3
<i>Fusarium solani</i> var. <i>argillaceum</i> (L—12)	81,3	6,5	80,2
<i>Fusarium nivale</i> (L—4)	80,3	3,0	76,0
<i>Stachybotrys atra</i>	57,8	11,0	85,7
<i>Verticillium candellabrum</i> (L—13)	78,7	11,5	82,2
<i>Humicola</i> (Hsz—304)	43,4	8,0	77,8
Steril micélium (L—9)	83,0	9,0	73,0
<i>Hormodendrum</i> sp. (L—11)	86,8	10,0	84,1
<i>Hormodendrum</i> sp. (L—10)	88,8	11,5	82,2
<i>Nigrospora</i> sp.	36,0	11,0	69,8
Dúsított tenyészet	53,9	12,5	92,3
Talajmikroflóra	64,9	12,0	95,5

A kísérlet céljára búzaszalmából FREUDENBERG [7] módszerével előállított ligninpreparátumot használtunk fel. A lignint szénforrásként 0.5%-os mennyiségben alkalmaztuk. Szerves nitrogénforrás minőségében élesztőkivonatot (0.5%), szervetlen nitrogénforrásként NH_4NO_3 -ot (0.25%) használtunk. A lignin mellett kiegészítő szénforrásként adagolt glukóz illetve cellulóz mennyisége 1.5% volt.

A 100 ml-es Erlenmeyer lombikokba a szénforrásként alkalmazott lignint és cellulózt mérés útján adagoltuk, míg a vízben oldható komponenseket (élesztőkivonat, NH_4NO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl) a dupla koncentrációjú folyékony tápközeggel vittük be. Lombikonként 25 ml tápközeget és 25 ml pH-7-es M/15 foszfát-puffert adagoltunk. A kísérlet variánsai:

- A. Lignin + NH_4NO_3
- B. Lignin + glukóz + NH_4NO_3
- C. Lignin + élesztőkivonat
- D. Lignin + glukóz + élesztőkivonat
- E. Lignin + cellulóz + NH_4NO_3
- F. Lignin + cellulóz + élesztőkivonat

Sterilizálás után a beoltást a vizsgált gombatörzsek spóraszuszpenziója azonos mennyiségeinek bevitelével végeztük.

3. táblázat

Különböző nitrogén- és szénforrások hatása a lignin lebontására.
Inkubációs idő 6 hónap

(1) A gombatörzsek megnevezése	A		B		C		D		E		F	
	(2) Az elbomlott lignin mennyisége											
	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
Penicillium piscarium (L—2)	31	12,4	26	10,4	30	12,0	21	8,4	10	4,0	8	3,2
Fusarium solani (L—12)	29	11,6	23	9,2	31	12,4	17	6,8	*6	*2,4	*7	*2,8
Fusarium avenaceum var. herbarum (L—6)	31	12,4	16	6,4	26	10,4	19	7,6	16	6,4	*3	*1,2
Hormodendrum sp. (L—11)	38	15,2	31	12,4	29	11,6	26	10,4	16	6,4	9	3,6
Penicillium nalgio- vensis (Ksz—11)	26	10,4	7	2,8	20	8,0	*1	0,4	*2	*0,8	*1	*0,4

* jelzett adatok esetében a ligninként visszatározott anyag súlya több mint a bevitt lignin mennyisége; A—F kezeléseket lásd 141. oldalon.

Az inkubáció 25° C-os termosztátban respiráció nélkül 6 hónapig tartott. Az inkubáció befejeztével a lignin mennyiségét KOMAROV [19] módszerével 72%-os kénsavval való kezelés útján határoztuk meg.

A cellulóz variánsok esetében az összes visszamaradt anyag és a lignin-meghatározás adataiból számítás útján kaptuk meg a maradék, illetve az elbontott cellulóz mennyiségét. A vizsgálat eredményeit a 3. táblázat szemlélteti.

WAKSMAN és STEVENS [36], WAKSMAN és HUTCHINGS [35], PINCK és ALLISON [23] megfigyelték, hogy a növényi szervesanyag mikrobiológiai lebontása során, egyes gombák micéliumában ligninként meghatározható anyagok képződnek, mely esetben a lignin-tartalom nem csökken, sőt az abszolút mennyisége növekedhet.

A gombák tenyészeiben képződő ligninhez hasonló anyagok meghatározása céljából cellulóz szénforrással állítottuk be a kísérletet. A cellulózt 2%-os mennyiségben alkalmaztuk. A két kezeléssel lefolytatott kísérletben az egyik esetben nitrogénforrásként NH_4NO_3 -ot (0.25%), a másik esetben pedig élesztőkivonatot alkalmaztunk (0.5%). A táptalaj még 1 g KCl-ot, 1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -ot tartalmazott 1000 ml-enként. A 100 ml-es Erlenmeyer lombikokba 1—1 g cellulózt mértünk és a fentiekben ismertetett összetételű dupla koncentrációjú tápközegből 25 ml-t adagoltunk, majd 25 ml pH 7-es foszfát-puffert, amely foszfor tápanyagul is szolgált. A steril tápközeget a gombatörzsek spóraszuszpenziójával beoltottuk, majd 6 hónapon át inkubáltuk.

Inkubáció után a tápközegtől szűréssel elválasztottuk a visszamaradt cellulózt és a gombamicéliumot, majd a lignintípusú anyagokat KOMAROV [19] szerint meghatároztuk. A kísérlet adatait a 4. táblázatban közöljük.

Vizsgálatokat végeztünk arra vonatkozólag is, milyen mértékben növekednek a különböző talajgombák a ligninből származtatható aromatikuss vegyületeken. A kísérletben tanulmányozott fenolanyagok: syringaldehid,

4. táblázat

Ligninként visszahatározható anyagok mennyisége a cellulóz szénforráson növekvő gombák micéliumában a különböző nitrogén-források esetében

(1) Törzsek megnevezése	(2) NH ₄ NO ₃		(2) Élesztő kivonat
	(3) Ligninként meghatározható anyag		
	mg	mg	
Aspergillus candidus (L—1)	36	5	
Penicillium piscarium (L—2)	16	11	
Penicillium verruculosum (L—5)	42	9	
Penicillium sp. P. funiculosum series (P—511)	50	11	
Penicillium nalgiovensis (Ksz—11)	33	11	
Penicillium sp. P. purpurogenum series (Ksz—14)	48	7	
Hormodendrum sp. (L—11)	14	16	
Fusarium avenaceum var. herbarum (L—6)	11	13	
Fusarium solani var. argillaceum (L—12)	42	24	
Fusarium aquaeductum var. dimerum (tn—22)	45	37	
Nigrospora sp.	39	21	
Stachybotrys atra	36	21	
Verticillium candelabrum	16	14	
Kontroll	3.8	3.7	

p-hydroxibenzaldehid és a ferulasav, a lignin molekula alkotórészei. A syringaldehid és a p-hydroxibenzaldehid a lignin lúgos nitrobenzolban történő oxidációjának termékei, a ferulasav pedig egy komplett fenilpropán egység.

A vizsgálatok céljára módosított összetételű folyékony CZAPEK féle tápközeget használtunk, amelyből a szacharóz és a FeSO₄ hiányzott.

Szénforrásként adagolt fenolanyagokat desztillált vízben oldottuk 0.02%-os mennyiségben. Az ásványi sókat tartalmazó tápközeget autoklavozással, a fenolanyagokat pedig hideg úton — szűrővel — sterilizáltuk. A fenololdatokból és az ásványi sókat tartalmazó alaptápközegből — steril — 50 ml-es Erlenmeyer lombikokba 5—5 ml-t adagoltunk. A fenolanyagtartalom a p-hydroxibenzaldehid, a syringaldehid és a ferulasav esetében egyformán 1000 µg volt lombikonként.

A beoltás burgonya-dextróz agaron előtenyésztett gombák (4 napig inkubált) telepeiből kivágott 5 mm Ø agarlemez darabkákkal történt.

Kontrollként olyan lombikok szolgáltak, amelyek tartalmaztak:

1. Fenoltartalmú közeget beoltatlan agarlemez darabkákkal
2. Fenoltartalmú közeget agarlemez darabkák nélkül.

Az inkubáció 24° C-on 28 napig tartott.

Inkubáció után a tápoldatot a micéliumtól és az agarlemeztől szűrővel elválasztottuk, a szűrőn maradt anyagot átmostuk, majd a tápoldatban visszamaradt fenolanyag mennyiségeket — fenolreagensekkel képződött színreakció alapján — fotokolorimetrikus módszerrel meghatároztuk. A leolvasott kolorimetrikus értékeket az azonosan kezelt ismert fenolanyag mennyiségeket tartalmazó standardok felhasználásával nyert standard görbék adataihoz, valamint a kontroll értékekhez viszonyítottuk. A vizsgálat eredményét az 5. táblázatban ismertetjük.

5. táblázat

**Fenolanyagok gombák által történő lebontásának mértéke.
Inkubációs idő 28 nap**

(1) A gombatörzsek megnevezése és jelzése	(2) A visszamaradt fenolanyagok mennyisége μg -ban (eredeti mennyiség 1000 μg /lombik)		
	p-hydroxybenzaldehyd	syringaldehyd	ferulasav
Aspergillus candidus (L—1)	ny	345	650
Penicillium piscarium (L—2)	—	195	140
Penicillium verruculosum (L—5)	—	100	—
Penicillium sp. (511) Penicillium funiculosum series	—	90	—
Penicillium pallidum	—	50	—
Penicillium nalgiovensis (Ksz—11)	—	—	—
Penicillium sp. Penicillium purpurogenum series (Ksz—14)	—	70	240
Fusarium avenaceum var. herbarum (L—6)	—	—	—
Fusarium aquaeductum var. dimerum (tn—22)	—	—	—
Fusarium sp. (602)	—	—	—
Fusarium solani var. argillaceum (L—12)	—	—	—
Fusarium nivale (L—4)	—	340	160
Stachybotrys atra	—	*	*
Verticillium candellabrum (L—13)	—	180	50
Humicola (Hsz—304)	—	150	—
Steril micélium (L—9)	—	—	—
Hormodendrum sp. (L—11)	—	—	—
Hormodendrum sp. (L—10)	—	—	—
Nigrospora	—	420	550
Kontroll	1015 μg	985 μg	980 μg

* = az eredeti anyagban mutatkozó pigmentképződés miatt nem értékelhető

Eredmények értékelése

A kísérlet adataiból megállapítható, hogy a tanulmányozott talajgombák különböző mértékben képesek a szalma ligninanyagait lebontani (1. táblázat). A Freudenberg módszerével kinyert lignint — mint a 2. táblázatból is látható — a gombák lassabban és sokkal kisebb mértékben bontják el, mint a natív növényi lignint. Feltételezhetően ez kapcsolatban van azzal, hogy a kémiai előállítás során a lignin jelentős mértékben megváltozik, és ennek következtében a lignin-preparátumok másképpen viselkednek a mikrobiológiai lebontással szemben, mint a növényben levő ligninanyagok.

Kísérleteink során tapasztaltuk, hogy egyes gombák tenyészeiben (pl. Nigrospóra) a növényi szervesanyag lignintartalma nem csökkent, ugyanakkor a kémiai ligninpreparátumon jól növekedett és a lignintartalom 11%-át lebontotta. A 3. táblázat adataiból jól látható, hogy azon kezelésekben, amelyekben a lignin mellett cellulóz vagy glükóz szénforrást is alkalmaztunk egyes esetekben a visszahatározott lignin mennyisége meghaladta a bevitt, illetve a kontroll kezelésben levő lignin mennyiségét. WAKSMAN és STEVENS [36], WAKSMAN és HUTCHINGS [35], PINCK és ALLISON [23] korábbiakban

idézett munkáikban ennek okát, a szervesanyagon növekedő gombák micéliumában képződő, ligninként meghatározható anyagok felhalmozódásában látják, amely kísérleteikben bizonyítást is nyert.

A kísérletbe vont gombák micéliumában ligninként meghatározható anyagok képződését saját vizsgálatainkban cellulóz szénforrás jelenlétében tanulmányoztuk.

A vizsgálat eredményét a 4. táblázatban közöljük. Az adatok összevetéséből megállapítható, hogy szervesetlen nitrogén forrás jelenlétében nagyobb mennyiségben képződtek ligninként visszahatározható anyagok, mint szerves nitrogén forráson. A lignint szerkezeti és felépítési sajátosságaiból eredően kémiaiilag ellenálló anyagként jellemezhetjük; savakban és a szerves oldószer-ek többségében nem, csupán lúgokban oldódik. A lignin kémiai és szerkezeti sajátosságai a biológiai folyamatokkal szembeni ellenállóságban is kifejezésre jutnak. WAKSMAN és HUTCHINGS [35], WAKSMAN és CORDON [34], KONONOVA [20] a lignint a növényi szervesanyag-maradványok legellenállóbb frakciója-ként jellemzik. A növényi szervesanyag aerob átalakulása során a könnyen oldható szénhidrátokat a mikroszervezetek már a humifikáció első szakaszában hasznosítják, a cellulóz és hemicellulóz lebontása is sokkal intenzívebben megy végbe, mint a lignin anyagoké, mindezek a lignin tartalom relatív növekedését eredményezik. A kísérletünkben felhasznált szalmaanyag 23.05% lignint tartalmazott, a lignin akkumulációja következtében a hat hónapos inkubáció után a visszamaradt szalmaanyag lignin tartalma minden kezelés esetében 27% fölé emelkedett, és egyes gombák lebontási maradékában elérte a 35%-ot. A lignin ellenállósága következtében visszatartó hatással van a növényi maradványok cellulóz és hemicellulóz anyagának elbontására. A kísérletek adatai-ból a lignin visszatartó hatása jól értékelhető. Amíg a tiszta cellulózt és hemicellulózt (egyetlen szénforrásként) a tanulmányozott gombák többsége 60—85%-ig lebontotta 12 hetes inkubáció alatt, addig a szalma ligninen kívüli anyagrésze — amelyeknek túlnyomó részét hemicellulóz és cellulóz alkotta — a hat hónapos inkubációs idő alatt ennél jóval kisebb mértékben mineralizálódott. WAKSMAN és CORDON [34] megállapításai szerint a növényi maradványok lignintartalmának csökkentésével a cellulóz és hemicellulóz elbontásának mértéke növekszik, azonban még 8% lignin jelenlétében is 50%-kal kisebb a cellulóz elbontása a növényben mint a tiszta cellulóz esetében. A lignintartalmat 1.5%-ra csökkentve a növényi cellulóz lebontásának mértéke megegyezett a szűrőpapíréval. Mindezek figyelembe vételével WAKSMAN és CORDON azon következtetésre jutottak, hogy a növényekben a cellulóz és a lignin nem egyszerű fizikai módon kapcsolódik, hanem kémiai kötés van közöttük.

A lignin biológiai átalakulásával foglalkozó irodalomban nagy számban található olyan adatok, hogy a nitrogénforrások minősége hatással van a lignin lebontására. WAKSMAN és HUTCHINGS [35], WAKSMAN és CORDON [34], DION [4], a fehérje nitrogénforrásokat előmozdító hatásának értékeli a lignin lebontásában. Az általunk lefolytatott kísérletben a szerves nitrogénforrás előmozdító hatását nem tapasztaltuk, sőt a szervesetlen nitrogénforrás jelenlétében a lignin elbontása valamelyest intenzívebben ment végbe (3. táblázat).

A ligninen kívül glukóz szénforrást is tartalmazó tápközegeben a lignin elbontásának mértéke elmaradt a csak lignint tartalmazó kezelésben kapott értéktől. Ligninnek cellulóz kiegészítő szénforrással történő alkalmazása esetében a lignintartalom alig csökkent, illetve visszahatározott lignin mennyisége meghaladta a bevitt ligninanyag mennyiségét, amely a ligninként visszahatá-

rozható anyagok szintézisével magyarázható. A nitrogénforrások ligninbontásban betöltött szerepének értékelése céljából további vizsgálatok szükségesek.

A ligninkutatásban — a növényi anyagokon és kémiai ligninpreparátumokon kívül — újabban ligninhez hasonló felépítésű anyagokat (pl. α -konidendirin) valamint a ligninből származtatható fenolanyagokat is kiterjedten alkalmaznak. Ezek előnye, hogy vegytiszta állapotban is előállíthatók, míg a különböző kémiai ligninpreparátumok összetétele nagymértékben változó.

Kísérletünkben három ligninből származtatható fenolvegyülettel folytattunk vizsgálatot. A kísérletbe vont talajgombák jól növekedtek az egyedüli szénforrásként alkalmazott aromás aldehiden és a ferulasavon. (5. táblázat).

A p-hydroxibenzaldehid volt a legkönnyebben elbontható, valamennyi gomba teljes mértékben elbontotta azt, csupán az *Aspergillus candidus* tenyésztében volt nyomokban kimutatható. A syringaldehid és a ferulasav ellenállóbbnak bizonyult, de még a kevésbé aktív gombák is 50%-nál nagyobb mértékben hasznosították.

A tanulmányozott gombák fenolanyagokkal szembeni viselkedése alapján megállapítható, hogy ezen mikroszervezetek a lignin elbontás utolsó szakaszában, az aromás ligninösszetevők elbontásában is aktív szereppel bírnak.

Összefoglalás

Laboratóriumi viszonyok között vizsgálatokat végeztünk annak tanulmányozására, hogy a kísérletbe vont 20 mikroszkopikus gombatörzs milyen szerepet visz a natív növényi lignin, valamint kémiai úton nyert ligninpreparátum elbontásában. Tanulmányoztuk a gombák növekedését aromás lignin-származékokon.

A kísérletek alapján megállapíthatjuk, hogy a gombák többsége résztvesz a lignin lebontásában. A lignin anyagok akadályozzák a növényi maradványokban a cellulóz és a hemicellulóz elbontását. A búzaszalma elbontása során a lignin akkumulálódik. Cellulóz szénforráson növekvő gombák micéliumában ligninként meghatározható anyagok szintetizálódnak.

A kísérletben tanulmányozott talajgombák jól növekednek, a ligninből származtatható aromás molekulákat — p-hydroxibenzaldehid, syringaldehid, ferulasav — tartalmazó tápközegen.

Irodalom

- [1] BILAJ, V. J.: Fusarii. Izd. AN. USSR. Kiev. 1955.
- [2] BONDI, A., & MEYER, H.: Lignin in young plants. *Biochem. J.* **43**. 1948.
- [3] DAY, W. C., PELCZAR, M. J., & GOTTLIEB, S.: The biological degradation of lignin. I. Utilization of lignin by fungi. *Arch. Biochem.* **23**. 360—369 1949.
- [4] DION, W. M.: Production and properties of a polyphenol oxidase from the fungus *Polyphorus versicolor*. *Can. J. Botany.* **30**. 9—21. 1952.
- [5] FISCHER, G.: Untersuchungen über den biologischen Abbau des Lignins durch Mikroorganismen. *Arch. Mikrobiol.* **18**. 397—424. 1953.
- [6] FLAIG W., SCHOBINGER U., & DEUEL H.: Umwandlung von Lignin in Huminsäuren bei der Verrottung von Weizenstroh. *Chem. Ber.* **8**. 1973. 1959.
- [7] FREUDENBERG, K., ZOCHER, H., & DÜRR, W.: Weitere Versuche mit Lignin. XI. Mitt. über Lignin und Cellulose. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **62**. 1814—1823. 1929.
- [8] FREUDENBERG, K., JANSON, A., KNOPT, E. & HAAG, A.: Zur Kenntnis des Lignins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **69**. 1415—1425. 1936.

- [9] FREUDENBERG, K., LAUTSCH, W., & ENGEL, K.: Die Bildung von Vanilin aus Fichtenlignin. Ber. Dtsch. Chem. Ges. **73**. 167–171. 1938.
- [10] FREUDENBERG, K.: Biosynthesis and constitution of lignin. Nature. **183**. 1152–1155. 1959.
- [11] GILMAN, J. C.: A Manual of Soil Fungi Iowa State Coll. Press Ames. 1950.
- [12] GOTTLIEB, S., & POLCZERA, M.: Microbiological aspects of lignin degradation. Bact. Rev. **15**. 55–76. 1951.
- [13] HENDERSON, M. E. K., & FARMER, V. C.: Utilization by soil fungi of p-hydroxibenzaldehyde, ferulic acid and vanillin. J. Gen. Microbiol. **12**. 37–46. 1955.
- [14] HENDERSON, M. E. K.: Release of aromatic compounds from birch and spruce sawdusts during decomposition by white-rot fungi. Nature. **175**. 634–635. 1955.
- [15] HENDERSON, M. E. K.: The metabolism of aromatic compounds related to lignin by some Hyphomycetes and yeast like fungi of soil. J. Gen. Microbiol. **26**. 155–165. 1961.
- [16] HENDERSON, M. E. K.: Fungal metabolism of certain aromatic compounds related to lignin. Proc. Symp. Chem. Biochem. Fungi and Yeast. Butterworths. London. 589–602. 1963.
- [17] HIBBERT, H.: Lignin. Ann. Rev. Biochem. **11**. 183–202. 1942.
- [18] KLASON, P.: Beiträge zur Konstitution des Lignins. Ber. Dtsch. Chem. Ges. **64**. 2733. 1931.
- [19] KOMAROV, F. P.: Rukovodstvo k laboratornüm rabotam po himii drevszinü i celljulozü. Moszkva. 1934.
- [20] KONONOVA, M. M.: Organiceskoe vescuščstvo počvü. Izd. AN. SSSR. Moszkva. 1963.
- [21] LEDINGHAM, G. A., & ADAMS, G. A.: Biological decomposition of chemical lignin. II. Studies on the decomposition of calcium lignosulphonate by wood destroying fungi. Can. J. Research. C, **20**. 13–27. 1942.
- [22] PHILLIPS, M., WEIHE, H. D. & SMITH, N. R.: The decomposition of lignified materials by soil microorganisms. Soil Sci. **30**. 383–390. 1930.
- [23] PINCK, L. A., & ALLISON, F. E.: The synthesis of lignin like complexes by fungi. Soil Sci. **57**. 155–161. 1944.
- [24] POCHON, J.: Manuel Technique d'Analyse du Sol. Masson. Paris. 1954.
- [25] RAPER, K. B. & THOM, C.: A Manual of the Penicillia. Williams & Wilkins. Baltimore. 1949.
- [26] RAYNAUD, M., FISCHER, G., PRÉVOT, A. R. & BIZZINI, B.: Au sujet de la disparition de la lignine dans les cultures de Pseudomonas. Ann. Inst. Pasteur. **91**. 267–269. 1956.
- [27] RYPAČEK, V.: Die Veränderungen in der Struktur der verholzten Zellwand im Verlaufe der Humification. Acta Agrobot. **9**. (1) 53–61. 1960.
- [28] SUNDMAN, V.: A description of some lignanolytic soil bacteria and their ability to oxidize simple phenolic compounds. J. Gen. Microbiol. **36**. 171–183. 1964.
- [29] SUNDMAN, V.: The ability of α -coninendrin decomposing Agrobacterium strains to utilize other lignans and lignin-related compounds. J. Gen. Microbiol. **36**. 185–201. 1964.
- [30] SZEGI, J. & GULYÁS, F.: Adatok egyes vitaminoknak a talajban történő felhalmozódásához. Agrochimica és Talajtan **13**. 281–286. 1964.
- [31] THOM, C. & RAPER, K. B.: A manual of the Aspergilli. Williams & Wilkins. Baltimore. 1945.
- [32] WAKSMAN, S. A.: The growth of fungi in the soil. Soil Sci. **14**. 153–161. 1922.
- [33] WAKSMAN, S. A.: Decomposition of the various chemical constituents of complex plant materials by pure cultures of fungi and bacteria. Arch. Mikrobiol. **2**. 136–154. 1931.
- [34] WAKSMAN, S. A. & CORDON, T. C.: Method for studying decomposition of isolated lignin and the influence of lignin on cellulose decomposition. Soil Sci. **45**. 199–206. 1938.
- [35] WAKSMAN, S. A. & HUTCHINGS, I. J.: Decomposition of lignin by microorganisms. Soil Sci. **42**. 119–130. 1936.
- [36] WAKSMAN, S. A. & STEVENS, K. R.: Contribution to the chemical composition of various peat profiles. Soil Sci. **26**. 239–251. 1928.
- [37] WAKSMAN, S. A. & TENNEY, F. G.: Composition of natural organic materials and their decomposition in the soil. III. Influence of nature of plant upon the rapidity of its decomposition. Soil Sci. **26**. 155–171. 1928.

Érkezett: 1966. március 1.

On the Role Played by Several Soil Fungi in the Microbiological Decomposition of Lignine

F. GULYÁS

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Summary

In the course of laboratory examinations, author studied the lignine-decomposing capability of about 20 microscopic soil fungi.

The studied fungus strains belonged to the *Aspergillus*, *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Stachybotrys* and *Verticillium* genera. The fungus strains were isolated from the ploughed layer of a chernozem soil with lime mycelia by means of the enrichment process, that is, by that of the selective method of HENDERSON and FARMER.

The majority of the examined fungus strains were able to utilize the lignine preparation, made of wheat straw with the method of FREUDENBERG, as the only carbon source. Lignine extracted from straw in a chemical way could be decomposed by the fungi far slowly and to a lesser degree than the native plant lignine.

The quality of the nitrogen source (organic or inorganic nitrogen) did not influence essentially the intensity of lignine decomposition.

When a supplementary carbon source (glucose or cellulose) was employed in addition to lignine, the decomposition of lignine took place to a lesser degree. The fungi prefer the more easily available carbon sources, but in addition to this it should not be ignored that in the presence of supplementary carbon sources certain materials, that can be specified as lignine, form in the mycelium of the fungi.

In the presence of an inorganic carbon source the lignine-like materials become synthesized to a greater extent than in a culture medium containing organic nitrogen source.

The majority of the studied fungi developed well on a culture medium (p-hydroxy benzaldehyde, syring aldehyde, ferulic acid) containing aromatic compounds derivable from lignine. P-hydroxy benzaldehyde proved to be the most easily decomposable.

Table 1. The decomposition of straw by saprophytic fungi. Incubation period: 6 months. (1) Denomination and mark of the studied fungus strains. (2) Decomposed straw, mg. (3) Decomposition of straw materials in addition to lignine, %. (4) Decomposition of lignine, %. (5) Lignine content in the remains of straw, %. a) Original straw material. b) In the original straw material.

Table 2. The decomposition of cellulose, hemicellulose and lignine by micro-fungi isolated from the soil. (The incubation period was 6 months in the case of lignine and 12 weeks in the case of cellulose and hemicellulose. (1) Denomination and laboratory mark of the studied fungus strains. (2) The amount of the decomposed material, in per cent.

Table 3. The effect of various nitrogen and carbon sources on the decomposition of lignine. Incubation period: 6 months. (1) Denomination of fungus strains. Treatments: A. Lignine + NH_4NO_3 . B. Lignine + NH_4NO_3 + glucose. C. Lignine + yeast extract. D. Lignine + yeast extract + glucose. E. Lignine + cellulose + NH_4NO_3 . F. Lignine + cellulose + yeast extract. (2) The amount of the decomposed lignine.

Table 4. The amount of materials that can be specified as lignine in the mycelium of fungi developing on cellulose carbon source, in the case of various nitrogen sources. (1) Denomination of strains. (2) Yeast extract. (3) Material that can be specified as lignine.

Table 5. The degree of the decomposition of phenol materials brought about by fungi. Incubation period: 28 days. (1) Denomination and laboratory mark of fungus strains. (2) The amount of residual phenol materials in μg . (Original amount: 1000 μg per flask.)

Über die Rolle einiger Bodenpilze im mikrobiologischen Abbau des Lignins

F. GULYÁS

Institut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Der Verfasser untersuchte im Laboratorium die Ligninabbaufähigkeit von mehr als 20 mikroskopischen Bodenpilzen.

Die im Versuch angewendeten Pilzstämmen gehörten zu den Genera *Aspergillus*, *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Verticillium*. Diese

Pilzstämme wurden aus der Ackerkrume eines mizellaren tschernozyom Bodens durch Anreicherungsverfahren bzw. mit Hilfe der selektiven Methode von HENDERSON und FARMER isoliert.

Die Mehrheit der untersuchten Pilzstämme war im Stande das Ligninpräparat, welches aus Weizenstroh mit der Methode von FREUDENBERG hergestellt worden ist, als einzige Kohlenstoffquelle zu verwenden. Pilze können das aus Stroh mit chemischen Methoden gewonnene Lignin viel langsamer und in geringerem Masse, als das native Lignin der Pflanzen zersetzen.

Die Intensität der Ligninzersetzung wurde durch die Qualität der Stickstoffquelle (organischer oder anorganischer Stickstoff) im Wesentlichen nicht beeinflusst.

Verwendete man neben dem Lignin eine ergänzende Kohlenstoffquelle (Glukose oder Zellulose), so wurde der Ligninabbau geringer. Die Pilze bevorzugten die leichter aufnehmbaren Kohlenstoffquellen, ausserdem bilden sich in Gegenwart von ergänzenden Kohlenstoffquellen im Myzell der Pilze solche Stoffe, die bei Bestimmungen als Lignin erscheinen.

In Gegenwart von anorganischen Stickstoffquellen werden ligninartige Stoffe in grösserem Masse synthetisiert, als auf Nährböden, die organische Stickstoffquellen enthalten.

Die Mehrheit der untersuchten Pilze gedieh gut auf dem Nährboden, welcher die vom Lignin ableitbaren aromatischen Verbindungen (p-Hydroxibenzaldehyd, Siringaldehyd, Ferula-Säure) enthielt. Am leichtesten wurde das p-Hydroxibenzaldehyd zersetzt.

1. *Tabelle.* Abbau von Stroh durch saprophytische Pilze. Inkubationszeit: 6 Monate. (1) Namen und Zeichen der untersuchten Pilzstämme. (2) Zersetztes Stroh in mg. (3) Abbau anderer Strohstoffe (ohne Lignin) in %. (4) Abbau des Lignins in %. (5) Lignin-gehalt des zurückgebliebenen Strohs in %. a) das originelle Strohmaterial (Gewicht). b) im originellen Strohmaterial (in %).

2. *Tabelle.* Abbau von Zellulose, Haemizellulose und Lignin durch die aus dem Boden isolierten Mikropilze. Inkubationszeit: bei Lignin 6 Monate, bei Zellulose und Haemizellulose 12 Wochen. (1) Namen und Zeichen der untersuchten Pilzstämme. (2) Die Menge der zersetzten Stoffe in %.

3. *Tabelle.* Wirkung verschiedener Stickstoff- und Kohlenstoffquellen auf den Abbau des Lignins. Inkubationszeit: 6 Monate. (1) Namen der Pilzstämme. Behandlungen: A. Lignin + NH_4NO_3 . B. Lignin + NH_4NO_3 + Glukose. C. Lignin + Hefeextrakt. D. Lignin + Hefeextrakt + Glukose. E. Lignin + Zellulose + NH_4NO_3 . F. Lignin + + Zellulose + Hefeextrakt. (2) Menge des zersetzten Lignins.

4. *Tabelle.* Menge der als Lignin bestimmbaren Stoffe, im Falle von verschiedenen Stickstoffquellen im Myzell der Pilze, die mit Zellulose-Kohlenstoffquelle genährt wurden. (1) Namen der Stämme. (2) Hefeextrakt. (3) der, als Lignin bestimmbare Stoff

5. *Tabelle.* Zersetzungsgrad der Phenolstoffe durch Pilze. Inkubationszeit: 28 Tage. (1) Namen und Zeichen der Pilzstämme. (2) Zurückgebliebene Menge der Phenolstoffe in μg . (Ausgangsmenge 1000 μg (Kolben)).

Роль некоторых почвенных грибов в процессах биологического разложения лигнина

Ф. ГУЯШ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии, Будапешт

Резюме

Автор в ряде лабораторных исследований изучал способность разлагать лигнин двадцати микроскопических почвенных грибов.

В опытах использовались штаммы, относящиеся к: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Hormodendrum*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Verticillium*.

Изученные штаммы грибов изолировались из пахотного горизонта мицелярного чернозема методом обогащения или селективным методом Гендерсон и Фармер.

Большинство исследуемых штаммов грибов были способны использовать единственный источник углерода — препарат лигнина, полученный из пшеничной соломы

по методу Фреуденберг. Лигнин, полученный из соломы разлагается грибами гораздо медленнее и в меньшей степени, чем натуральный растительный лигнин.

Качество азотного источника (органический или минеральный азот) существенно не влияло на интенсивность разложения лигнина.

В случае применения дополнительного источника углерода (глюкоза, целлюлоза) помимо лигнина, лигнин разлагается в меньшей степени. Грибки предпочитают более легкоусвояемые источники углерода, однако необходимо принимать во внимание и то, что в присутствии дополнительных источников углерода в мицелиях грибов образуются вещества, которые могут быть определены как лигнин.

При наличии источников неорганического азота лигниноподобные вещества в большей мере синтезируются, чем в питательной среде, содержащей источник органического азота.

Большинство исследуемых грибов хорошо развивалось на питательной среде, содержащей ароматические соединения, полученные из лигнина. (p-гидроксibenзалдегид, синрингалдегид, феруловая кислота и т. д.) Легче всего разлагается p-гидроксibenзалдегид.

Табл. 1. Разложение соломы грибами-сапрофитами. Инкубационный период 6 месяцев. (1) Название и обозначение изученных штаммов грибов. (2) Количество разложившейся соломы в мг. (3) Разложение соломы без лигнина в %. (4) Разложение лигнина %. (5) Содержание лигнина в остатке соломы. %. а) исходная солома. в) в исходной соломе.

Табл. 2. Разложение целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина микроскопическими грибами, выделенными из почвы. (инкубационный период для лигнина — 6 месяцев, целлюлозы и гемицеллюлозы 12 недель.) (1) Название исследуемых штаммов грибов и их лабораторное обозначение. (2) Количество разложившегося вещества в %.

Табл. 3. Различные источники азота и углерода и их влияние на разложение лигнина. Время инкубации 6 месяцев. (1) Название штаммов грибов. Варианты: А. Лигнин + NH_4NO_3 . В. Лигнин + глюкоза + NH_4NO_3 . С. Лигнин + дрожжевой экстракт. D. Лигнин + дрожжевой экстракт + глюкоза. Е. Лигнин + целлюлоза + NH_4NO_3 . F. Лигнин + целлюлоза + дрожжевой экстракт. (2) Количество разложившегося лигнина.

Табл. 4. Количество веществ, которые можно определить как лигнин; в мицелиях грибов, развивающихся на целлюлозе, как источнике углерода в случае различных источников азота. (1) Название штаммов. (2) Дрожжевой экстракт. (3) Вещества, определяемые как лигнин.

Табл. 5. Степень разложения фенольных веществ грибами. Инкубационный период 28 дней. (1) Название штаммов и лабораторное обозначение. (2) Остаток фенольных веществ в $\mu\text{г}$. (исходное количество веществ было 1000 $\mu\text{г}$ /колба).